

Opinnäytetyö

Bioanalytikkokoulutus

NBIOAS14

2017

Blomqvist Mika, Manninen Eero

Dryspot- ja BinaxNOW-pikatestien soveltuvuusvertailu pääasialliseksi tunnistustestiksi pneumokokki-diagnoosin saamiseksi veriviljelyistä.

Eero Manninen, Mika Blomqvist

DRYSPOT- JA BINAXNOW-PIKATESTIEN SOVELTUVUUSVERTAILU PÄÄASIAALLISEKSI TUNNISTUSTESTIKSI PNEUMOKOKKI-DIAGNOOSIN SAAMISEKSI VERIVILJELYISTÄ

Streptococcus pneumoniae on Gram-positiivinen kokkibakteeri, joka kuuluu ihmisen nenänielun normaaliflooraan. Suotuisissa olosuhteissa sille on mahdollista aiheuttaa monenlaisia, kohde-elimiltään ja vakavuudeltaan vaihtelevia infektiota. Pneumokokki on esimerkiksi Suomen yleisin otitiin eli korvatulehduksen aiheuttaja, mutta saattaa saada aikaan myös vakavampia tauteja aina keuhkokuumeesta meningiittiin ja sepsikseen. Flunssakaudella sille on tyypillistä toimia opportunistina virusperäisen infektion yhteydessä. Länsimaissa pneumokokin kantajuus väestössä on arvioiden mukaan noin 5%, mutta esimerkiksi flunssakaudella määrä saattaa jopa kymmenkertaistua. Kehitysmaissa kantajuus on vielä huomattavasti yleisempää.

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli nopeuttaa pneumokokin veriviljelydiagnostiikkaa Turun yliopistollisen keskussairaalan kliinisen mikrobiologian osastolla 938, jonka toimeksiannosta työ myös tehtiin. Opinnäytetyön tarkoituksena oli määrittää kahden pikatestin luotettavuus pneumokokin diagnosoimiseen veriviljelystä. Tehtävänä oli vertailla DrySpot- ja BinaxNOW-pikatestejä keskenään ja selvittää niiden soveltuvuus edellä mainittuun tarkoitukseen.

Työ suoritettiin keväällä 2017 kliinisen mikrobiologian osasto 938:n laboratoriotiloissa. Tutkimusaineistona käytettiin pakkaseen taltioituja bakteerikantoja. Kannoista noin puolet olivat pneumokokkipositiivisia ja puolet muita bakteereja sisältäviä potilasnäytteitä. Näytteistä valmistettiin suolaliuokseen suspensio, jota siirrettiin veriviljelypulloon simuloimaan bakteeripositiivista verta. Suspensiosta viljeltiin myös niin sanottu häntämalja varmistukseksi suspensioon siirtyneistä bakteereista. Bakteerikasvua sisältäneet veriviljelypulloveret testattiin kummallakin pikatestillä ja tulokset tallennettiin taulukkoon.

Tulosten pohjalta todettiin puutteita kummassakin pikatestikitissä. BinaxNOW:n herkkyys oli tutkimusaineston pneumokokkikantojen kohdalla täydellinen, mutta positiivisen tuloksen pneumokokkispesifisyys heikko. DrySpot-pikatestissä ei ilmennyt ainuttakaan väärää positiivista tulosta, mutta tunnistamatta jäi useita pneumokokkikantoja. Puutteisiin vedoten kumpaakaan testikittiä ei voitu hyväksyä tarkoituksenmukaiseen käyttöön.

ASIASANAT:

Streptococcus pneumoniae, veriviljely, DrySpot, BinaxNOW

Eero Manninen, Mika Blomqvist

COMPARING THE APPLICABILITY OF DRYSPOT AND BINAXNOW QUICKTESTS AS PRIMARY METHODS FOR IDENTIFYING STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE IN BLOOD CULTURES

Streptococcus pneumoniae is a Gram positive coccus bacteria that is part of the normal bacterial flora of the human nasopharynx. Given favourable conditions, it is capable of causing various infections differing in target organs as well as the gravity of infection. *S. pneumoniae* is the most common cause of otitis in Finland and can also cause more serious illnesses from pneumonia to meningitis and sepsis. During the influenza season it commonly acts as an opportunist in a virus inflicted infection. In the Western countries, approximately 5% of the population are carriers of *S. pneumoniae* but the percentage can as much as decuple during the influenza season. In the developing world countries carriers are much more common.

The aim of this thesis was to speed up the diagnostics of *S. pneumoniae* in blood cultures in the Department of Clinical Microbiology 938 of the Turku University Hospital. The current thesis was done by order of the same Department. The purpose of the thesis was to define the reliability of two quick tests in diagnosis of *S. pneumoniae* in blood cultures. The task was to compare DrySpot ja BinaxNOW tests and define their applicability to the abovementioned purpose.

The study was conducted in Spring 2017 in the laboratory facilities of the Department 938. Frozen bacterial strains were used as research material. Approximately one half of the strains were *S. pneumoniae* positive and the other half of the patient samples were positive for other bacteria. A suspension in NaCl solution was made of the samples to simulate bacteria positive blood in the blood culture bottles. A control culture was created to ensure the right bacterial cultures in the suspension. The blood culture bottles containing bacterial strains were tested for *S. pneumoniae* using both quick tests, and the results were moved to tabular form.

Results showed shortcomings in the applicability of both quick tests. The sensitivity for *S. pneumoniae* was perfect in BinaxNOW but the test lacked specificity for positive results of *S. pneumoniae*. DrySpot gave no false positives but failed to identify several strains of *S. pneumoniae*. Therefore, neither of the two tests were accepted for the abovementioned purpose.

KEYWORDS:

Streptococcus pneumoniae, blood culture, DrySpot, BinaxNOW

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	5
2 OPINNÄYTETYÖN TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT	7
2.1 Streptococcus pneumoniae	7
2.2 Veriviljely	8
2.3 BinaxNOW-pikatesti	9
2.4 DrySpot-pikatesti	10
2.5 Aikaisemmat tutkimukset	11
3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT	14
4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS	15
4.1 Testien suoritus	15
4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	20
4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat	20
5 TULOKSET	22
6 POHDINTA	24
LÄHTEET	26

1 JOHDANTO

Streptococcus pneumoniae eli pneumokokki on yksi yleisimpiä verenmyrkytyksen eli sepsiksen aiheuttajia Suomessa. Vielä vuonna 2013 se oli peräti yleisin sepsiksen aiheuttaja pikkulapsilla, mutta tehokkaan rokotusohjelman ansioista infektioiden määrä on merkittävästi vähentynyt. Muilla riskiryhmillä, kuten vanhemmilla ikäluokilla ei vastaavaa laskua ole havaittu. (Terveyskirjasto 2017.)

Pneumokokkisepsis todetaan veriviljelyn avulla. Positiivisen eli bakteerikasvua sisältävän veriviljelypullon ensimmäinen jatkotutkimus on gram-värjäys ja sen tulkinta. Bioanalyytikon mikroskopoimalla tekemä tunnistus on luotettavuudeltaan kuitenkin vain suuntaa antava, ja uutto-toimenpiteiden kautta mahdollinen MALDI-TOF-massaspektrometrianalyysikin pneumokokin kohdalla epäluotettava. Abacus dignostican automaattinen Genomera-PCR-analyysi ja maljaviljelystä tehtävä Biomérieuxin Vitek-analysaattori-tunnistus ovat puolestaan työllistäviä tai viivyttävät diagnoosin saamista yhdestä useampaan päivään. Järjestelmää olisi siis hyvin tarpeellista saada nopeutettua luotettavuudesta tinkimättä. (Friman Anniina, 31.3.2017.)

Positiivisista veriviljelypullosta suoraan tai laimennoksen kautta tehtävä, luotettava pneumokokki-pikatesti olisi todella tarpeellinen, sillä tarkkaa, halpaa ja yksinkertaista varmistustestiä ei ole vielä käytössä. Pneumokokkipositiivinen veriviljelypullo on tehokkaan alfa-hemolyyysin jäljiltä väriltäänkin jo hieman poikkeava (vihertävänruskea) ja sopivan taudinkuvan kanssa värjäyksestä paljastuvat grampositiiviset diplokokit ovat melko nopeita ja varmoja merkkejä pneumokokista. Näillä esitiedoilla luotettava pikatesti olisi nopea, helppo ja toivottu apu. (Friman Anniina, Grönroos Juha O., 24.2.2017.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää ja arvioida kummankin käyttöön suunnitellun testin luotettavuutta, sekä mahdollisesti verrata niiden soveltuvuutta pääasiallisesti pikatestiksi veriviljelyissä. Tässä opinnäytetyössä saatujen

tulosten tavoitteena on auttaa Varsinais-Suomen sairaanhoitopiiriin kuuluvaa TYKS:n mikrobiologian ja genetiikan, osasto 938 :aa (viitataan jatkossa pelkästään os.938:na), validoimaan nopea ja spesifi pikatesti pneumokokin toteamiseksi positiivisesta veriviljelynäytteestä.

2 OPINNÄYTETYÖN TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT

2.1 *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae on yksi yleisimpiä ja merkittävimpiä taudinaiheuttajia niin Suomessa kuin maailmallakin. Pneumokokki aiheuttamien infektioiden kirjo on myös erittäin laaja-alainen niin kohde-elimiltään kuin vakavuudeltaankin. Mikrobia esiintyy osana ihmisen nenänielun normaaliflooraa, missä se on perusterveellä ihmisellä vaaraton. On arvioitu, että pneumokokkia esiintyy luonnollisesti noin 5%:lla terveistä aikuisista ja jopa kolmanneksella lapsista. Flunssakaudella esiintyvyys kasvaa ja jopa puolet väestöstä saattaa toimia kantajina (pfizer 2017). Kehitysmaissa kantajuus on monin kerroin yleisempää ja sen esiintyvyys saattaa olla jo muutaman kuukauden ikäisillä 100% (Hedman ym. 2012, 113). Immuunijärjestelmän puutteellisuus (pienet lapset) tai heikentyminen (vanhukset, muuta infektiota sairastavat) ovat usein syy pneumokokki-infektion alkamiselle. (Terveyskirjasto 2017.)

Luokittelultaan *Streptococcus pneumoniae* on grampositiivinen kokkibakteeri, joka etenkin veri- tai aivo-selkäydinnestelvielystä tehdyssä gramvärjäyksessä näkyy ryhmittäytyneenä usein selvästi diplokokkeina (Hedman ym. 2012, 113). Pneumokokki saattaa joissain tapauksissa esiintyä myös täysin yksittäin, vaikeuttaen näin varmaa tunnistamista (Olli Meurman 2010). Verimaljalle viljeltynä pneumokki saa aikaan alfa-hemolyyttisiä pesäkkeitä, jotka optokiiniantibiootin läsnäollessa muodostavat estorenkään kyseessä olevan antibioottikiekon ympärille (Hedman ym. 2012, 113). Serotyypeiltään erilaisia pneumokokkeja on löydetty noin 90, joista hieman yli 20 aiheuttavat valtaosan infektioista (rokotetutkimus 2017). Pneumokokin virulenssiin vaikuttaa vahvasti sen fagosytoosia estävän polysakkaridikapselin rakenne (Thermofisher 2017).

Osana nenänielun normaaliflooraa, pneumokokille on tyypillistä jo nimestäänkin päätellen levitä keuhkoihin, täten aiheuttaen keuhkokuumetta eli pneumoniam. Myös nenän sivuontelotulehdukset sekä korvatulehdukset ovat yleisiä pneumokokin aiheuttamia infektioita. Etenkin korvatulehdustapauksissa, joita

Suomessa todetaan vuosittain yli puoli miljoonaa, pneumokokki on kaikkein yleisin taudinaiheuttajabakteeri (Rokotetutkimus 2017). Vakavimmat infektiot syntyvät kuitenkin bakteerin joutuessa kehon steriileihin nesteisiin, esimerkiksi vereen, jolloin kyseessä on vakava verenmyrkytys ja yleisinfektio eli sepsis. Pneumokokkisepsiksen kuolleisuus oli vielä 30 vuotta sitten jopa 30%, nykyään enää noin puolet tästä. Veren lisäksi pneumokokki pystyy tunkeutumaan myös likvoriin, aiheuttaen korkean kuolemanriskin meningiittiä. Tämä opinnäytetyö keskittyy yksinomaan pneumokokin määrittämiseen veriviljelystä pneumosepsiksen toteamiseksi. (Terveyskirjasto 2017)

Tartuntareittejä *Streptococcus pneumoniae*lle ovat kosketus- ja pisaratartunta. Altistaviin tekijöihin kuuluvat edellä mainittujen ikätekijöiden ja yleisen sairastelun (esim. virustaudin jälkeen) lisäksi muut immuunijärjestelmää heikentävät tekijät kuten sydämen, maksan ja munuaisten toimintahäiriöt, diabetes, krooniset keuhkosairaudet, alkoholinkäyttö ja tupakointi. (Terveyskirjasto 2017, Rokotetutkimus 2017)

2.2 Veriviljely

Veriviljelyn tarkoituksena on tunnistaa potilaan verenkierrossa kulkeva mahdollinen bakteeri. Veriviljely otetaan kaikista korkeakuumeisista potilaista ja muista huonokuntoisista potilaista, joiden terveydentilalle ei ole muuta järkevää selitystä. Veriviljelypullosta bakteerin kasvu on havaittavissa yleensä noin vuorokauden kuluttua. (Terveyskirjasto 2017.) Veriviljely otetaan laskimoverinäytteenä yhdellä pistoksella. Näytteenottovälineenä käytetään yleisesti siipineulanäytteenottoasettiä yhdistettynä Vacutainer-ohjaimeen. (VSSH 2017.)

Veriviljelyitä pyritään ottamaan aina kaksi kappaletta, koska vakavissakin infektioiden bakteerien tai hiivojen pitoisuudet veressä ovat pieniä. Suurempi verimäärä tekee testistä herkemmän. Potilaasta otetaan verinäytteet kahteen

aerobipulloon ja kahteen anaerobipulloon. Näytemäärät ja -pullot ovat aikuisilla ja lapsilla erikokoiset, aikuisilla 8-10ml, ja lapsilla 1-3ml per pullo. (VSSH 2017.)

Ulkopuolista kontaminaatiota tulee välttää kaikin tavoin, joten näytteenottoa puhdistetaan huolellisesti pyyhkimällä klooriheksidiini-alkoholiin kostutetuilla harsotaitoksella voimakkaasti hangaten tai pitämällä pistokohdassa 70% etanolihaudetta noin yhden minuutin ajan. Veriviljelypullojen korkkisuojus avataan, ja pullojen kumimembraani pyyhitään 70% etanoliin kostutetuilla steriilillä harsotaitoksella ennen näytteenottoa. (VSSH 2017.)

2.3 BinaxNOW-pikatesti

BinaxNow- testi on immunografinen kalvoanalyysi, joka on tarkoitettu *Streptococcus pneumoniae* liukoisen antigeenin tunnistamiseen virtsasta tai selkäydinnesteestä. Muihin nesteisiin testiä ei ole validoitu. (Alere 2017.) Opinnäytetyössä käytetään testiä *S.pneumoniae* tunnistamiseen veriviljelyistä. Testi perustuu immunografiseen menetelmään eli vasta-aineantigeenikompleksien muodostumiseen testiliuskalla. Testiviivaan on imeytyneenä jäniksen anti-*S.pneumoniae*-vasta-ainetta ja vastaavasti kontrollivasta-ainetta on imeytyneenä kontrolliviivan kohdalle nitroselluloosakalvolle. Molemmat vasta-aineet on konjugoitu partikkeleilla, jotka tekevät visuaalisen havaitsemisen mahdolliseksi. Positiivinen tulos ja myös onnistunut kontrolli muodostavat selkeän pinkistä-violettin värisen viivan tulosten lukemiseksi. (Alere 2017.)

Testi suoritetaan tuomalla näytteet huoneenlämpöön ja sekoittamalla näytettä hieman. Tämän jälkeen poistetaan testikortti pussista ja kastetaan kitin mukana tullut pumpulipuikko näytteeseen. Mikäli pumpuliin tarttuu ylimäärin näytettä, valutetaan ylimääräinen neste näyteputken reunaa vasten pois. Seuraavaksi näytettä sisältävä pumpulipuikko laitetaan testikortin alempaan reikään, kunnes se näkyy ylemmän reiän puolella. Reagenssi A:ta lisätään alemman reiän kautta

pumpulipuikon päälle kolme tippaa, irrotetaan tarranauha kortin reunasta ja suljetaan kortti. Tulokset voidaan lukea 15 minuutin sisällä. (Alere 2017.)

2.4 DrySpot-pikatesti

The Oxoid DrySpot[™] Pneumo Test on pneumokokin pinta-antigeenien tunnistamiseen perustuva latex-agglutinaatio -testi, joka on tarkoitettu maljalta kerätyn pesäkkeen tai veriviljelynäytteen analysoimiseen. Testi käyttää liuskalle kuivattuja latex-partikkeleita, jotka ovat päällystetty useimmille tunnetuille pneumokokin serotyyppeille herkillä kanin vasta-aineilla ja reagoivat ulkopuolelta tuodun pneumokokin kanssa, kun kuivatut latex-napit liuotetaan mikrobia sisältävään liuokseen. (Thermofisher 2017).

Mikäli näyte ei ole nestemäisessä muodossa (esim. bakteeripesäkkeet), tulee esikäsittelynä liuskalla oleville testialueille (merkatut ympyrät, joilla kuivatut vasta-aineet sijaitsevat) lisätä 50 µl kitin sisältämää PBS-liuosta, jonka osumista kuivattuihin vasta-aineisiin ennen mikrobin lisäämistä tulee välttää. Maljalla kasvatettu mikrobi tuodaan liuskalle steriilillä silmukalla tai sauvalla ja sekoitetaan PBS-tippaan. Testialueen eri päissä sijaitsevat kuivatut latex-vasta-ainekompleksit ja mikrobia sisältävä PBS sekoitetaan samalla steriilillä silmukalla toisiinsa. Jokaista testattua näytettä kohden tulee tehdä rinnalla myös negatiivinen kontrolli, joka sisältää pelkästään kitin tarjoamaa PBS-liuosta. PBS-liuos sekoitetaan sellaisenaan kuivattuihin vasta-aineisiin (omalla steriilillä silmukalla). Näytteen ja latex-vasta-aineiden sekoituttua tulee testiliuskaa kallistella noin 60 sekunnin ajan, jolloin mahdollinen positiivinen tulos tulee näkyviin mikrobien pinta-antigeeneihin kiinnittyvien vasta-ainekompleksien muodostamana sakkana. Negatiivisessa tuloksessa sakkaa ei muodostu. (Thermofisher 2017)

Veriviljelypullosta tehtävä näytteen analysointi suoritetaan keräämällä ja sentrifugoimalla pullosta 1-2ml näytettä. Sentrifugoidun näytteen supernatanttia

lisätään liuskalle 1 tippa ja testi suoritetaan täsmälleen edellämainitun pesäke-analyysin tavoin, poislukien PBS:n lisääminen, mitä ei tarvita, koska supernatantti on jo itsessään nestemäisessä muodossa ja valmis sekoitettavaksi kuivatun latex-antigeenin kanssa. Negatiivinen kontrolli suoritetaan kuten pesäkkeeltä kerätyn näytteenkin kanssa. (Thermofisher 2017)

2.5 Aikaisemmat tutkimukset

Petti, Woods ja Reller (2005.) selvittivät BinaxNow-pikatestin soveltuvuutta *Streptococcus pneumoniae* osoittamiseen positiivisista veriviljelypulloista. Tutkimuksessa myös selvitettiin, kuinka pitkään pneumokokille tyypillinen antigeeni on havaittavissa pulloista. Tutkimuksessa oli mukana 44 veriviljely positiivista pulloa, joista 43 oli *S.pneumoniae*-positiivisia. Yksi pulloista kasvoi *Streptococcus mitis* ryhmän bakteeria. Tuloksena saatiin, että BinaxNow-testillä voidaan tunnistaa *S.pneumoniae*-positiivinen veriviljelypullo 100% tapauksista. Testi tosin antaa herkästi vääriä positiivisia, varsinkin kun kyseessä on viridians-ryhmän streptokokit, ja niistä etenkin *S.mitis*. Syynä on ilmeisesti mitiksen ristireagointi pneumokokin C -polysakkaridiantigeenin kanssa. Pneumokokille tyypillinen antigeeni oli havaittavissa sille positiivisista pulloista päivinä 2 – 30. Tutkimusryhmä päätteli, että BinaxNow on hyödyllinen *S.pneumoniae* diagnosoinnissa varsinkin, kun gramvärjäys on yhteensopiva *S.pneumoniae*:n kanssa. Tutkimusryhmä myös toteaa BinaxNow:in olevan hyödyllinen alustavassa pneumokokkibakteerin toteamisessa muun muassa silloin, kun jatkoviljelyt ovat negatiivisia tai myöhästyneet.

Altun, Athlin, Almuhayawi, Özenci ja Strålin (2015.) selvittivät BinaxNow-pikatestin soveltuvuutta *Streptococcus pneumoniae* pikaiseen tunnistamiseen veriviljelypositiivisesta näytteestä. Tutkimuksessa oli mukana yhteensä 373 veriviljelypulloa 159 potilaalta. Tutkimuksessa käytettiin anaerobisia ja aerobisia BacT/ALERT:in pulloja. Veriviljelylaitteena oli BacT/ALERT 3D -veriviljelykaappi. Näistä pulloista 358:sta löytyi grampositiivinen kokkibakteeri gramvärjäyksellä. Pulloista 15 osoittautui negatiivisiksi gramvärjäyksessä. Perustuen standardin

mukaisiin mikrobiologisiin analyysimenetelmiin pulloista 266/358 (74.3%) oli positiivisia *S.pneumoniae*lle. Pulloista 67 oli positiivisia muille alfa-hemolyytisille streptokokeille ja 23 pulloa oli positiivisia *Enterobacter Cloacae*lle. Yksi pullo oli positiivinen *Klebsiella pneumoniae*lle. BinaxNOW tunnisti 100% kaikista *S.pneumoniae*lle positiivisista veriviljelypulloista. BinaxNOW:n spesifisyys oli tutkimuksen mukaan 64.1% ($p < 0.01$). Vääriä positiivisia aiheuttivat pääosin muut alfa-hemolyttiset bakteerit. Eniten vääriä positiivisia aiheuttivat *Streptococcus oralis* ja *Streptococcus mitis*. Vääriä positiivisia aiheuttivat myös enterokokit. Kaiken kaikkiaan BinaxNOW antoi väärän positiivisen 37.3% tapauksista, kun kyseessä oli jokin muu bakteeri kuin *S.Pneumoniae*. Tutkimuksen mukaan BinaxNow tunnistaa *S.pneumoniae*en suurella herkkyydellä. Testin spesifisyys on kuitenkin matala johtuen BinaxNow-pikatestin taipumuksesta antaa vääriä positiivisia tuloksia sekä muiden alfa-hemolyttisten streptokokkien että muutamien enterokokkien suhteen. Tutkimuksessa todetaan, että jatkotutkimukset ovat tarpeellisia tulosten kliinisen merkityksen selvittämiseksi.

Larsson, Karlsson ja Woksepp (2014.) selvittivät, miten veriviljelypositiivisista näytteistä voidaan kuuden tunnin sisällä pullon hälyttämisestä parhaiten tunnistaa gram-positiiviset bakteerit. Yksi tutkimuksessa olleista menetelmistä oli DrySpot-pikatesti. Tutkimuksessa mukana olleesta 166 grampositiivisesta kokista 150 tunnistettiin onnistuneesti kuuden tunnin sisällä samana päivänä. Loput näytteistä tunnistettiin seuraavan päivän aikana. Tutkimuksessa käytettiin pelkästään aerobisia veriviljelypulloja BD:ltä (*Bactec Aerobic/plus F*) ja Bact/Alert:lta (*BacT/Alert FA*-pullo). Dryspot-pikatestiin käytettiin näytemateriaalina viljelypullon sisältämää veren ja kasvatusaineen seosta (tässä työssä käytetty termiä 1:1-näyte) positiiviseksi hälyttäneestä pullosta. DrySpot-pikatesti suoritettiin pakkauksen ohjeiden mukaan luukuun ottamatta sentrifugointia. Positiiviseksi hälyttäneistä pulloista tehtiin ennen testausta gramvärjäys, jossa todettiin kyseessä olevan grampositiivinen kokki. DrySpot tunnisti 1:1-näytteestä tehtäessä oikein 17/22 *S.pneumoniae*-positiivisista näytteistä. Loput viisi näytettä onnistuttiin tunnistamaan DrySpotilla maljalta viljellyistä bakteeripesäkkeistä saman päivän aikana 4 – 6 tunnin kuluessa pullon

hälyttämisestä. Muut positiiviset veriviljelypullot, jotka eivät sisältäneet *S.pneumoniae*, antoivat negatiivisen tuloksen testattaessa DrySpot:lla. Muiden bakteerien joukossa oli neljä kappaletta *S.mitikselle* positiivisia näytteitä. Testaus tehtiin näissäkin tapauksissa 1:1-näytteestä ja viljellyillä pesäkkeillä. Tutkimuksen mukaan DrySpot-pikatestin spesifisyys oli korkea testattaessa suoraan 1:1-näytteestä ja positiivinen tulos kertoo hyvin suurella todennäköisyydellä *S.pneumoniae*en mahdollisuudesta. Negatiivinen tulos on kuitenkin tarkistettava 4 – 6 tunnin sisällä tehdyistä jatkoviljelyistä.

3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on määrittää BinaxNow- ja DrySpot-pikatestien luotettavuus positiivisista veriviljelyistä seulottavan *Streptococcus pneumoniae*en diagnosoinnissa ja selvittää, onko kumpikaan testeistä tarpeeksi luotettava diagnoosin teon pohjaksi. Tutkimus tehdään kliinisen mikrobiologian osastolle 938 heidän pyynnöstään, sillä *Streptococcus pneumoniae*en määrittäminen veriviljelyistä on tällä hetkellä tavasta riippuen joko liian epäluotettavaa tai liian työlästä ja kallista. Luotettavan pikatestin tarve olisi siis suuri. Tämän opinnäytetyön tavoitteena on nopeuttaa veriviljelyistä seulottavan *Streptococcus pneumoniae*en diagnostiikkaa osastolla 938 ja luoda uutta tietoa edellä mainittujen pikatestien soveltuvuudesta veriviljelydiagnostiikkaan.

Opinnäytetyön tehtävänä on mitata kummankin käyttöön suunnitellun pikatestin luotettavuutta ja pohtia niiden soveltuvuutta veriviljelydiagnostiikkaan.

4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS

4.1 Testien suoritus

Pikatestien vertailu suoritettiin tammikuussa 2017 maanantain 20.1. ja perjantain 24.1. välisenä aikana Varsinais-Suomen sairaanhoitopiiriin kuuluvan TYKS:n mikrobiologian ja genetiikan osasto 938:lla. Ohjeet ja välineet testien suorittamiseen, näytteiden käsittelyyn sekä jätteiden hävittämiseen antoi osaston lääkäri, joka järjesti myös käytössä olleet bakteeriposiitiviset ja -negatiiviset, nimettömät potilasnäytteet. Potilasnäytteiden nimettömyydellä tarkoitetaan tässä tilanteessa näytteiden käsittelyä ja tulosten tallentamista pelkän työjononumeron perusteella. Tämä kirjaimia ja numeroita sisältävä koodi on näytteen laboratoriossa saama tunnus, jonka jokainen laboratorioon saapuva näyte saa perustuen siitä tehtäviin tutkimuksiin ja järjestysnumeroon kyseessä olevien tutkimusten analysoimisjärjestyksessä.

Opinnäytetyön tekemiseen suodut laboratoriotilat vaihtelivat osaston päivittäisten rutiinien ehdoilla. Työtilat olivat kuitenkin kaikki siltä osin identtiset keskenään, että ne sisälsivät aina vetokaapin sekä työpöydän. Riippuen tartuntavaarallisten näytteiden edellyttämistä työturvallisuusjärjestelyistä ja laboratorion toimintatavoista kaikki työvaiheet tapahtuivat näissä kahdessa ympäristöissä. Lisäksi työ sisälsi verinäytteiden ottamista veriviljelypulloihin, joihin lisättiin pakastettuna säilytettyä bakteerikantaa positiivisten veriviljelynäytteiden simuloimiseksi. Näytteenottotoiminta järjestettiin osasto 938:n yhteydessä toimivan Turun kaupunginsairaalan laboratorion osaston 131 näytteenottotiloissa. Näytteenä käytetty veri oli vapaaehtoisesti luovutettua, Tykslabin näytteenotto-ohjetta noudattaen otettua ja peräisin tämän opinnäytetyön tekijöiltä sekä opinnäytetyön suoritusta seuraavalta lääkäriltä. Kenelläkään luovuttajalla ei kyseisenä aikana ollut tiedettävää sepsistä tai muuten bakteeriposiitivista verta.

Työvälineet testien suorittamiseen tarjosi osasto 938. Välineistöön sisältyi BinaxNOW-pikatestikitit, DrySpot-pikatestikitit, suolaliuos, desinfiointivälineet,

lampaanverimaljat, viljelysilmukat ja -sauvat, koeputket, neulat, ruiskut, verinäyteputket, veriviljelypullot, inkubaatiokaappi, sekä edellä mainitut vetokaapit ja potilasnäytteet.

Ensimmäisenä päivänä, maanantaina 20.1.2017 testattiin 2 potilasnäytettä (työjononumeroiltaan FX-4438 ja FX-4477). Esitiedoiltaan FX-4438 oli todettu positiiviseksi grampositiiviselle sauvabakteerille. Bakteeriposiitiivisenakin näytteenä FX-4438, kuten monet muut edempänä mainittavat näytteet, oli siis tarkoitettu testien näkökulmasta ”negatiiviseksi” näytteeksi, sillä se ei sisältänyt pneumokokkia, jonka todentamiseen testit olivat tarkoitettu. FX-4477 oli *Streptococcus pneumoniae*-positiivinen. (FX-4477:n tunnistus oli saatu MALDI-TOF-massaspektrometrilla.)

Kummallekin näytteelle suoritettiin testaus ensin DrySpot-pikatestillä (Lot 1904715). Testejä samalla testikitillä tehtiin samasta näytteestä 2 kappaletta, laimennettu ja laimentamaton. Käytetyt laimennussuhteet olivat suoraan veriviljelypullosta otettu veren ja pullon sisältämän elatusaineen seos (tullaan puhumaan jatkossa 1:1-näytteenä) sekä pullosta suolaliuokseen 1:30 suhteessa laimennettu seos (tullaan puhumaan jatkossa 1:30-laimennoksena). Syy kahden väkevyyden testaamiseen oli saada selville mikäli ilman välivaiheita, suoraan veriviljelypullosta saatu materiaali olisi jo itsessään käyttökelpoinen testeihin. Epävirallinen hypoteesi 1:1-näytteen kohdalla oli, että sentrifugoimattomana, suoraan viljelypullosta se saattaisi tuottaa tuloksen lukua häiritsevän, liian tumman seoksen latex testillä ja liian tumman näytealueen BinaxNOW-testillä.

Testaus aloitettiin leikkaamalla DrySpot-kitin testikortti-arkista yhtenäinen 6 näytealueen liuska, josta 1 pari oli tarkoitettu kontrolleille ja 2 paria näytteille (1 pari per näyte). Testi suoritettiin sivulla 6, kohdassa 2.3 DrySpot-pikatesti kuvatulla tavalla, kun kyseessä on valmiiksi nestemäinen näytetyyppi. Testauksessa näytteet kerättiin ja laimennettiin ensin omina yhtenäisinä työvaiheenaan, jonka jälkeen ne pipetoitiin keräysjärjestyksessään jokainen omalle alueelleen liuskalla. Tämän jälkeen näytteet sekoitettiin kuivattuun antigeeniin pipetointijärjestyksessä. Sekoitettuja näytteitä käännettiin kortilla yhtä

aikaa ja tulos luettiin pipetointijärjestyksessä. Yhtenäisen näytteiden käsittelyn vuoksi DrySpot-testien suoritus standardoitiin tapahtuvaksi näin tässä työssä.

BinaxNOW-testillä (Lot E05393) näytteet testattiin myös edellämainittuun tapaan 1:1-näytteenä ja 1:30 laimennoksena. Testit suoritettiin sivulla 5, kohdassa 2.3 BinaxNOW-pikatesti kuvatulla tavalla. Testauksessa näytteet kerättiin ja laimennettiin omina yhtenäisinä työvaiheinaan, jonka jälkeen testit suoritettiin yksi kerrallaan keräysjärjestyksessä. Tulosten lukeminen tapahtui yksi kerrallaan keräysjärjestyksessä noin 10 minuutin kuluttua testin suorittamisesta.

Maanantaina 20.1.2017 tehtiin lisäksi puhdasviljelmät seuraavaa testauskertaa varten ohjaavan lääkärin itse perjantaina 17.1.2017 viljelemistä bakteerikannoista. Maanantaina puhdasviljeltyt kannat olivat peräisin potilasnäytteistä, taltiointinumeroiltaan T-27929, T-27956, T-27972, T-27973, T-28207, T-28106, T-28189T ja T-28242.

Tiistaina 21.1.2017 saatiin testattavaksi 7 tuoretta viljelypulloa potilasnäytettä. Näytteet olivat työjononumeroiltaan FX-4582, FX-4587, FX-4591, FX-4594 ja FX-4602. Näytteistä FX-4591 sekä FX-4602 olivat aerobipulloissa ja FX-4594 anaerobipullossa. FX-4582 ja FX-4587 olivat sekä aeobi-, että anaerobipulloissa. Potilasnäytteistä FX-4582 ja FX-4587 olivat varmistettuja pneumokokkikantoja, muut positiivisia muille bakteereille.

Testaukset tehtiin maanantaiseen tapaan sekä 1:1-näytteestä, että 1:30-laimennoksesta. Testit suoritettiin samalla tavoin, samoin työvaihein ja samoilla käytössä olleilla testikiteillä kuin maanantaina. Tiistaina lääkäriltä saadun uuden ohjeistuksen johdosta 1:1-näytteiden testaamista vähennettiin tehtäväksi keskiviikosta alkaen vain muiden kuin pneumokokkien ja Genomera-analysaattorilla pneumokokki-positiiviseksi vahvistettujen näytteiden kohdalla, mikäli testikitit antaisivat varmistetulle positiiviselle näytteelle negatiivisen tuloksen. Muutos ohjeistukseen perustui 1:1-näytteistä tehtyjen testien vaikealukuisuuteen 1:30-laimennoksesta tehtyihin testeihin verrattuna, sekä

siihen, että maanantain sekä tiistain testit antoivat saman tuloksen laimennussuhteista riippumatta.

Tiistaina 21.1.2017 viljeltiin myös näytteitä seuraavaa tutkimuskertaa varten maanantaina puhdasviljelyistä kannoista. Maljoilta eristettiin bakteeria viljelysauvaa käyttäen, joka sekoitettiin fysiologista suolaliuosta sisältävään putkeen sameudeltaan noin yhden McFarlandin (eli noin 3×10^8 CFU/ml) vahvuiseksi suspensioksi. Tätä suspensiota laimennettiin välilaimennosten kautta $((10 \mu\text{l}/1\text{ml})^3)$ noin 1:1 000 000 loppulaimennokseksi. Loppulaimennoksesta siirrettiin bakteerikantaa veriviljelypulloon noin 100 μl . Laimennusputket, sekä veriviljelypullot olivat merkitty jo ennen työn aloittamista niihin siirrettävän bakteerin alkuperää vastaavalla työjonon numerolla.

Viljelypullojen lisäksi jokaisesta 1:1000 000 -laimennoksesta tehtiin varmuuden vuoksi puhdasviljelmä uudelle maljalle liuosten, ja täten myös viljelypullojen puhtauden osoittamiseksi. Joka näytteelle tehtiin sama käsittely. Suspension teko ja laimennoskäsittely suoritettiin joka bakteerille omina, toisistaan riippumattomina sarjoinaan. Tämän jälkeen laimennosten istuttaminen pullotettuun vereen ja uuden maljan viljely laimennoksesta tehtiin samana työvaiheena joka näytteelle erikseen. Vaihteellaisuudella pyrimme standardoimaan tämän työvaiheen ja selkeyttämään näytteiden käsittelyä.

Tiistaina pulloihin ja maljoille viljeltyt näytteet olivat maanantaina puhdasviljeltyt kannat, taltiointinumeroiltaan T-27929, T-27956, T-27972, T-27973, T-28207, T-28106, T-28189 ja T-28242. Pullot merkittiin veriviljelynäytteenotolle tyypillisesti niin järjestysnumeroilla kuin myös ”potilastietoineen” eli työjononumerolla. Näytettä T-28189 lukuunottomatta kaikki olivat Genomeralla varmistettuja pneumokokkikantoja.

Keskiviikkona 22.1.2017 päästiin testaamaan tiistaina viljellyistä kahdeksasta kannasta vain seitsemän, sillä viljelyautomaatti ei ollut havainnut kasvua T-28189:n kohdalla. Jokaisesta viljelypulloon siirretystä bakteerisuspension

laimennoksesta tehdyt puhdasviljelmät kuitenkin osoittivat kasvua myös T-28189:n kohdalla, joten kyseinen pullo jätettiin automaattiin odottamaan bakteerikannan riittävää kasvua. Testaukset muiden 7 näytteen osalta tehtiin samalla tavoin, samoin työvaihein ja samoilla käytössä olleilla testikiteillä kuin tiistaina. Tiistaina asetettua uutta ohjetta noudattaen 1:1-näytettä ei testattu, ellei varmistetusta kannasta saatu pikatesteillä negatiivista tulosta. Näin päädyttiin tekemään DrySpot-pikatestin kohdalla näytteiden T-27956, T-28207, T-28106 kanssa sekä myös T-28242:n kohdalla, sillä se antoi 1:30 laimennoksella puhtaan negatiivisen vastauksen sijaan heikon positiivisen.

22.1.2017 viljeltiin jälleen myös näytteitä seuraavaan tutkimuskertaan. Viljelypulloja kertyi 8 kannan verran, jotka kaikki edustivat ei-pneumokokki-positiivista verta. Työjononumeroiltaan keskiviikkona viljelypulloihin istutetut kannat olivat T-26600, T-27830, T-27920, T-28130, T-28199, T-28248, T-28256 ja T-28257, joista aerobipulloihin viljeltiin T-26600, T-27830, T-28199 ja T-28257. Loput 4 viljeltiin anaerobipulloon. Suspension teko, laimennus, pulloon siirto ja puhdasviljelmän teko suoritettiin kuten tiistainakin.

Torstaina 23.1.2017 todettiin keskiviikkona viljellyistä kannoista kuuden sekä tiistaina viljellyn T-28189:n kasvaneen yön aikana tarvittavan määrän. Kasvamatta jääneet kannat olivat T-26600 ja T-27830, joista T-27830:lla ei näkynyt kasvua myöskään bakteerisuspensiosta tehdyn laimennoksen puhdasviljelymaljalla. Edellä mainitun seitsemän näytteen lisäksi tutkimuksiin saatiin 2 tuoretta potilasnäytettä, työjononumeroiltaan FX-4817 ja FX-4785. Testaukset suoritettiin aiemmin kuvatulla tavalla.

Torstaina viljeltiin uudet kymmenen näytettä, työjononumeroiltaan T-27542, T-27578, T-27243, T-27245, T-27672, T-27816, T-27995, T-27996, T-28031 ja T-28042. Todennettuja pneumokokkikantoja näistä olivat kaikki paitsi T-27672, T-27816 ja T-27995. Aerobipulloihin viljeltyjä olivat T-27578, T-27245, T-27816, T-27996 ja T-28042. Loput 5 viljeltiin anaerobipulloihin.

Perjantaina 23.1.2017 kaikki torstaina viljellyt kannat olivat yön aikana kasvaneet. Myös keskiviikkona viljellyistä, torstaiksi kasvamatta jääneistä kannoista T-26600 saatiin mukaan prosessiin. Testaus suoritettiin aiemmin kuvatulla tavalla. DrySpot-pikatestin jätettyä tunnistamatta 3 todennettua pneumokokkikantaa, myös 1:1-näytteet jouduttiin testaamaan kannoista T-27243, T-27578 ja T-28042. Kanta T-27830 ei kasvanut niin pullossa kuin maljallakaan.

4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Tämä opinnäytetyö oli tutkimuksellinen ja kvantitatiivinen eli määrällinen opinnäytetyö. Kvantitatiivisessa opinnäytetyössä ”vastataan kysymyksiin kuinka paljon, kuinka moni ja kuinka usein. Kvantitatiivinen tutkimus tähtää myös suureen otokseen, jolloin tulos vastaa paremmin kohderyhmän keskiarvoa. Määrälliselle tutkimukselle on myös tunnusomaista pyrkiä kuvaamaan, vertailemaan ja ennustamaan asioita. Määrällisen työn ongelmiin kuuluu mm. riittävän aineiston kerääminen ja huolellisuus. (Esseepankki 2017.)

Opinnäytetyössä pyrittiin mahdollisimman laajaan otantaan, jolloin saadaan mahdollisimman hyvän kuvan kummankin pikatestin herkkyydestä ja spesifisyydestä. Mitä suurempi otos saatiin aikaan, sitä varmempia voitiin olla valitun pikatestin virheettömyydestä/virherajoista. Tutkimus pyrki myös kuvaamaan eri mikrobilajien käyttäytymistä pikatestissä, sekä vertailemaan pikatestien ominaisuuksia toisiinsa. Opinnäytetyön pääongelma oli testejä tekevien henkilöiden työn jäljen toistettavuus ja tarkkuus. Tähän pyrittiin vaikuttamaan standardoidulla ja hyvin raportoidulla työllä.

4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Eettisesti laadukas opinnäytetyö edellyttää, että tutkimustyössä noudatetaan hyvää tieteellistä käytäntöä. Hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluu tiettyjen

toimintatapojen noudattaminen, kuten rehellisyys, tarkkuus ja huolellisuus tutkimustyössä, tulosten tallentamisessa ja tutkimustyössä saatujen tulosten arvioinnissa. Toisen henkilön tuottaman tekstin suora lainaaminen ja tiedon esittäminen omana eli plagiointi on kiellettyä. Toisen tuottamaa tutkimustietoa lainattaessa on aina käytettävä asianmukaisia lähdeviitteitä. Tutkimuksessa saadut tulokset on esitettävä niin, että yksittäistä tutkimukseen osallistujaa ei pysty tunnistamaan. (Hirsjärvi ym. 2009 23-27.)

Opinnäytetyölle hankittiin vaadittavat luvat. Opinnäytetyön aihe oli tarpeellinen, koska saadut tutkimustulokset hyödyttävät osaston 938 toimintaa. Tutkimustyössä käytettiin pääosin opinnäytetyön tekijöistä otettuja veriviljelynäytteitä, ja kaikki potilasnäytteet, joita analysoidaan, pysyivät täysin anonymieinä. Työssä noudatettiin hyvää tieteellistä käytäntöä. Opinnäytetyössä myös tähdättiin rehellisyyteen sekä perusteellisuuteen.

5 TULOKSET

Tulokset taulukoitiin (taulukot 1-3) työtä valvoneen lääkärin toiveita noudattaen.

Taltiointi	Laji	DrySpot	DrySpot	BinaxNOW	BinaxNOW
		1:1	1:30	1:1	1:30
fx-4477	Streptococcus pneumoniae	(pos)	pos	pos	pos
fx 4438	? (gram positiivinen sauva)	neg	neg	neg	neg
fx-4582	Streptococcus pneumoniae		pos	pos	pos
fx-4587	Streptococcus pneumoniae	neg	neg	pos	pos
fx-4591	? (stafylokokki)		neg	neg	neg
fx-4594	? (streptokokki)		neg	neg	neg
fx-4602	S.oralis		neg	neg	neg
t-27956	Streptococcus pneumoniae	(heikko pos)	neg		pos
t-27973	Streptococcus pneumoniae		pos		pos
t-28207	Streptococcus pneumoniae	neg	neg		pos
t-27972	Streptococcus pneumoniae		pos		pos
t-27929	Streptococcus pneumoniae		pos		pos
t-28242	Streptococcus pneumoniae	pos(selkeämpi)	pos(heikko pos)		pos
t-28106	Streptococcus pneumoniae	neg	neg		pos
t-28189	S.intermedius		neg		neg
t-28257	E.feacalis		neg		neg
t-28248	Gemella haemolysans		neg	neg	neg
t-27830	S.mitis (EI KASVANUT)				
t-28140	S.mitis		neg	pos	pos
t-28199	S.pyogenes		neg	neg	neg
t-28256	S.pyogenes		neg	neg	neg
t-26600	S.mutans		neg	neg	neg
t-27920	S.gallolyticus		neg	neg	neg
fx-4817	S.mutans		neg	(heikko pos)	(heikko pos)
fx-4785	no identification		neg	neg	neg
t-27996	Streptococcus pneumoniae		pos		pos
t-27995	S.mitis		neg	neg	neg
t-27816	S.mitis		neg	pos	pos
t-27672	S.oralis		neg	neg	neg
t-27245	Streptococcus pneumoniae		pos		pos
t-27243	Streptococcus pneumoniae	pos	neg		pos
t-27578	Streptococcus pneumoniae	neg	neg		pos
t-27542	Streptococcus pneumoniae		pos		pos
t-28031	Streptococcus pneumoniae		pos		pos
t-28042	Streptococcus pneumoniae		pos		pos

Taulukko 1

	BinaxNOW	
Herkkyys	100%	
Tarkkuus	82%	
	S.pneumoniae	Muut
Positiiviset tulokset	t-27245, t-27973, t-27243, t-28207, t-27578, t-27972, t-27542, t-27929, t-28031, t-28242, t-28042, t-27996, t-28106, fx-4582, fx-4587, fx-4477, t-27956	t-27816, t-28140
Negatiiviset tulokset		t-27672, t-27995, t-28199, t-28257, t-28256, t-27920, t-26600, fx-4817, t-28248, fx-4591, fx-4785, t-28189, fx-4602, fx 4438, fx-4594

Taulukko 2

	DrySpot	
Herkkyys	65%	
Tarkkuus	100%	
	S.pneumoniae	Muut
Positiiviset tulokset	fx-4477, fx-4582, t-27972, t-27929, t-27973, t-27973, t-28242, t-27996 t-28031, t-28042, t-27245,	
Negatiiviset tulokset	t-28207, t-28106, fx-4587, t-27956, t-27243, t-27578	t-27995, t-27816, t-27672, t-28189, t-28257, t-28248, t-27830, fx 4438, t-28140, t-28199, t-28256, t-26600, t-27920, fx-4817, fx-4785, fx-4591, fx-4594, fx-4602

Taulukko 3

6 POHDINTA

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää Dryspot- ja BinaxNow-testien soveltuvuus *Streptococcus pneumoniae*en pikaiseen ja tarkkaan osoittamiseen veriviljelyistä. Tutkimuksen tulokset olivat selkeät, mutta näytemäärän rajallisuudesta johtuen eivät välttämättä niin kattavat kuin ehkä olisi ollut toivottavaa. Harmillisesti useat muutkin tutkimukset, joissa samaa ongelmaa on yritetty selvittää, ovat niin ikään olleet näytemäärältään melko vähäisiä. Toisaalta tulokset niin tämän opinnäytetyön kuin monen tässä työssä mainitun ulkopuolisen tutkimuksen kesken ovat melko samansuuntaisia keskenään. Opinnäytetyön rajallisen näytemäärän lisäksi oli työssä mukana suhteellisen vähäinen määrä eri bakteerilajeja. Mahdollisessa jatkotutkimuksessa voisi olla oleellista laajentaa tutkimusta ottamalla mukaan muita bakteerilajeja, jotta mahdollinen ristireagointi saataisiin paremmin näkyviin. Esimerkkinä on Altun, Athlin, Almuhayawi, Özenci ja Strålin (2015) suorittama tutkimus BinaxNow-pikatestille, jossa oli myös mukana enterobakteereita. Enterobakteerit reagoivat BinaxNow-pikatestin kanssa antaen näin väärän positiivisen (Altun, Athlin, Almuhayawi, Özenci ja Strålin 2015.) Myös vääriä positiivisia tuloksia aiheuttaneen *S. mitis*in jatkotutkiminen voisi olla tuloksellista.

Opinnäytetyössä seurattiin hyvin pikatestivalmistajien antamia ohjeita testien tekemiseen. Tästä huolimatta yksi työvaihe jäi Dryspot-pikatestiä testattaessa tekemättä. Ohjeiden mukaan veriviljelypullosta analysointia tehtäessä 1 – 2ml näytettä sentrifugoidaan ja sentrifugoituneen näytteen supernatantista tehdään varsinainen testi lisäämällä supernatanttia liuskalle yksi tippa (Thermofisher 2017). Opinnäytetyössä tehtiin tutkimus suoraan veriviljelypullosta siirretystä veren ja elatusaineen seoksesta. Mahdollisessa jatkotutkimuksessa olisi hyvä ottaa selvää, onko supernatantin erottamisella tai näytetyypillä yleensä merkitystä Dryspot-pikatestin herkkyYTEEN tunnistaa *S. pneumoniae* veriviljelypositiivisesta pullosta tai esimerkiksi BAL-nesteestä tai ysköksestä. Toisaalta, yhdessä opinnäytetyön mainitsemassa tutkimuksessa, jossa selvitettiin Dryspot-pikatestin soveltuvuudesta samanlaiseen tarkoitukseen, oltiin

myös jätetty sentrifugointi ja supernatantin erottelu kokonaan tekemättä. (Larsson, Karlsson, Woksepp 2014)

Pieni näytemäärä huomioon ottaen opinnäytetyöstä voisi päätellä, että Dryspot-pikatesti on hyvin spesifinen *S.pneumoniae* tunnistamisessa veriviljelypulloista. Testin herkkyys oli kuitenkin suhteellisen matala. BinaxNow puolestaan osoitti korkeaa herkkyyttä, mutta sen spesifisyys oli huonompi. Mahdollisena ratkaisuna osaston 938 ongelmaan voisi olla Dryspot-pikatestin käyttäminen yhdessä BinaxNow testin kanssa, toistensa huonot puolet poissulkevana parina. Kuitenkin tässä tapauksessa ongelmaksi saattaa muodostua jälleen alkuperäisenkin ongelman osasyinä painaneet hinta ja työllistävyys.

Eräs mahdollinen jatkotutkimuksen aihe voisi olla Dryspot- tai BinaxNow-pikatestin käyttäminen osana *S.Pneumoniae* alustavassa tunnistuksessa, jolloin testissä vääriä tuloksia aiheuttava tekijä voitaisiin varmistaa saman päivän aikana tehdystä maljaviljelystä. Testin valinta tehtäisiin tässä tapauksessa riippuen resursseista ja tunnistuksen prioriteeteista (kumpi on tärkeämpi, positiivinen vai negatiivinen). Tällä tekniikalla voitaisiin mahdollisesti nopeuttaa *S.pneumoniae* tunnistamista veriviljelypositiivisesta pullosta. Vastaavaa menetelmää käytettiin DrySpot-pikatestin ja maljaviljelyn kanssa menestyksellisesti Larssonin, Karlssonin ja Wokseppin (2014) suorittamassa tutkimuksessa Dryspotilla, kuten kuvataan sivulla 6.

LÄHTEET

Alere 2017. Viitattu 30.3.2017

<https://ensur.invmed.com/ensur/broker/ensurbroker.aspx?code=IN710050&cs=26678443>.

Altun, Athlin, Almuhayawi, Özenci ja Strålin 2015. Rapid identification of *Streptococcus pneumoniae* in blood cultures by using the immuneLex, Slidex and Wellcogen latex agglutination test and the BinaxNow antigen test.

Esseepankki 2017. Viitattu 2.4.2017 <http://esseepankki.proakatemia.fi>.

Friman Anniina, haastattelu 31.3.2017

Grönroos Juha O., haastattelu 20.-24.2.2017

Hirsjärvi, S.; Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. Tutki ja kirjoita. Helsinki: Tammi.

Huovinen, P; Hedman, K; Heikkinen, T; Järvinen, A; Meri, S; Vaara M. 2012. Mikrobiologia – Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Duodecim.

Larsson, Karlsson, Woksepp 2014

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3994662/>

Meurman O. Gramvärjäykset-dialuento 2010

<http://www.labquality.fi/@Bin/2028802/meurman+Gram+nettiin.pdf>

Navarro, Garcia-Maset, Gimeno, Escribano, Garcia-de-Lomas 2004

<http://jcm.asm.org/content/42/10/4853.full>

Petti, Woods, Reller 2005

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1153727/>

Smith, Derrington, Evans, Creek, Morris, Dance ja Cartwright 2003

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC165271/>

Rokotetutkimus 2017. Pneumokokin aiheuttamat taudit. Viitattu 1.4.2017

<http://rokotetutkimus.fi/rokotteet/infektiaudit/pneumokokki.html>

Terveyskirjasto 2017. Verenmyrkytys eli sepsis. Viitattu 31.3.2017
http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00604

ThermoFisher 2017, viitattu 1.3.2017
<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/DR0420M>

VSSHHP 2017. Viitattu 31.3.2017.
<https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=1153>